

# Reflexiones sobre la placa y el cálculo dental: Perspectiva paleodontológica

A. Barrios  
E. Chimenos

Barrios A.; Chimenos E.: Reflexiones sobre la placa y el cálculo dental:  
Perspectiva paleodontológica, 1997; 9: 27-34.

## RESUMEN

La patología periodontal se incluye entre las enfermedades que se han podido diagnosticar en restos de individuos antiguos. Este hecho ha llevado a algunos investigadores al estudio del cálculo dental encontrado en individuos de hace cientos o miles de años, con el propósito de compararlo con el que se puede encontrar, en cualquier persona, en la actualidad. De esta manera, dichos investigadores han recogido información sobre la dieta, las manifestaciones bucales de las enfermedades gingivales y periodontales, así como de las bacterias que participaban en dichas enfermedades en poblaciones antiguas, entre otros datos de interés para disciplinas como la antropología, la arqueología y la paleodontología. En este artículo se describe la composición orgánica, inorgánica y bacteriana de la placa y el cálculo dental, y se revisan estudios que permiten conocer con detalle las características de la enfermedad periodontal en la antigüedad.

## PALABRAS CLAVE

Placa bacteriana. Cálculo dental. Enfermedad periodontal. Paleodontología.

## INTRODUCCION

Desde el comienzo de la vida, los seres vivos han padecido numerosas enfermedades. Entre las más antiguas de las que se tiene conocimiento está la patología periodontal, que se ha podido diagnosticar en restos mandibulares y maxilares de ciertos individuos del género *Homo* del Pleistoceno (Neanderthales) (1).

Con el paso de los años y el aumento del desarrollo intelectual por parte del hombre, se ha observado que en muchas civilizaciones se le daba mucha importancia a las enfermedades bucales, así como a sus posibles tratamientos, encontrándose, en ocasiones, incluida la patología periodontal (2).

La primera noticia que se tiene del interés por la higiene dental data de hace 4000 años en Mesopotamia, donde se ha podido encontrar un colgante compuesto de un aplicador de maquillaje, una cuchara limpiadora de oídos y un palillo de dientes finamente trabajado (3). Este interés se traslada de civilización en civilización

hasta nuestros días. De aquí el interés que esta enfermedad suscita en los paleopatólogos, antropólogos y arqueólogos, puesto que contribuye a la aportación de datos relativos a la edad de un individuo al morir, así como relativos a su dieta, aspectos muy importantes en sendas especialidades (4,5,6).

## PLACA BACTERIANA

La placa bacteriana es un acúmulo de polisacáridos, detritos alimentarios y, sobre todo, bacterias, pues en 1 mm<sup>3</sup> de placa se pueden encontrar hasta una concentración de 10<sup>8</sup> (8), que se van acumulando a nivel de diversas zonas de la cavidad bucal (2,7,8). Previamente a su acumulación sobre estas superficies bucales, entre las que destacan los dientes, se ha tenido que formar una capa amorfa y delgada, compuesta en un 98% de glicoproteínas salivales (mucinas), que se conoce con el nombre de *película adquirida*. Será mediante esta capa y una adhesión selectiva de las bacterias de la flora bucal que se llegue a producir la placa bacteriana (2,9,10).

La formación de la placa bacteriana se producirá gracias a una serie de coagregaciones interbacterianas sobre la película adquirida presente en las diferentes zonas de la cavidad bucal. El primer microorganismo que se ve implicado es el *Streptococcus sanguis*, bacteria grampositiva, que formará coagregación con *Actinomyces*, *Streptococcus mutans* y *Bacteroides*, interviniendo en menor medida otros microorganismos (2,8,11).

Estas coagregaciones interbacterianas van a poder observarse al microscopio electrónico de barrido de diversas formas, entre las que destacan tres: "mazorca de maíz", de la unión del *Streptococcus sanguis* al *Bacterionema*, "pelo de cepillo", formada por un bacilo central colonizado por otros bacilos que se unen a él de forma perpendicular al filamento de soporte, y la del "rosetón", formada por colonias de cocos (12).

En relación al margen gingival, la placa se diferencia en dos categorías: *supragingival* y *subgingival*. La placa supragingival es la que se encuentra en la corona dental, siendo la responsable de la inflamación de la encía, mientras que la placa subgingival se encuentra apicalmente al margen gingival, siendo la responsable de la progresión apical de la enfermedad. Además de esta pequeña diferencia existe una gran diferencia en las bacterias que las componen, como se verá más adelante (2,8,10,13).

La placa bacteriana está determinada por la susceptibilidad del individuo a determinadas bacterias, por la edad del mismo, así como por la dieta que siga; por esta razón, su existencia prolongada dependerá de la higiene que dicho individuo realice sobre las diferentes zonas de su cavidad bucal (2). Así pues, la evolución lógica de la placa bacteriana será hacia formar *cálculo dental*, mediante la calcificación de ésta. Ello puede evitarse mediante higiene, antibioticoterapia o con antisépticos bucales (13,14,15,16,17). La placa bacteriana puede favorecer también la inflamación de los tejidos gingivales, provocando en un principio una *gingivitis* o inflamación gingival, en la que no existe pérdida de soporte óseo dental, que se produce al cabo de 1 a 3 semanas del acúmulo de placa dental. En ocasiones, posteriormente, si no se trata la gingivitis, ésta evoluciona hacia una *periodontitis*, en donde sí existe pérdida de soporte óseo. Esta se producirá dependiendo del grado de la infección y de la edad del paciente, pues está demostrado que la periodontitis aumenta con la edad. La movilidad dental resultante puede llegar a producir la pérdida del diente afecto (13,15,18,19). Por todo esto el aumento del acúmulo de placa llevará consigo un empeoramiento del estado periodontal del individuo (20).

Por último cabe destacar la correlación que existe entre diversos miembros de una misma familia y la prevalencia de periodontitis (21,22).

## CALCULO DENTAL

El cálculo dental es una calcificación de placa bacteriana depositada en los dientes u otras estructuras duras de la cavidad bucal (2,8).

Esta estructura calcificada contiene en su matriz de un 1,5% a un 20% de agua, un 20% de componente orgánico y alrededor de un 70-80% de componentes inorgánicos. El componente orgánico está compuesto por una mezcla de proteínopolisacáridos, células epiteliales descamadas, leucocitos, diversas clases de microorganismos y una porción casi insignificante de lípidos. Por otra parte, los componentes inorgánicos principales (Fig. 1) son el  $\text{Ca}^{2+}$  con un 57,9%, el  $\text{PO}_4^{2-}$  con un 28,2%, el  $\text{C}^{4+}$  con un 7,9%, el  $\text{Na}^{2+}$  con un 3%, el  $\text{Mg}^{2+}$  con un 1,5% y pequeñas cantidades de Zn, Sr, Br, Cu, Mn, W, Au, Al, Si, Fe y F. Es a su vez importante destacar que 2/3 de los componentes inorgánicos están cristalizados en forma de *hidroxiapatita* [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{OH})_2$ ] en un 51%, *whitlockita* [ $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3 \cdot \text{PO}_4$ ] en un 22,3%, *fosfato octocálcico* [ $\text{Ca}_8\text{H}(\text{PO}_4)_3 \cdot (2\text{H}_2\text{O})$ ] en un 18,5% y *brusita* [ $\text{Ca HPO}_4 \cdot (2\text{H}_2\text{O})$ ] en un 8,2% (Fig. 2) (2,8,23).

Al igual que en la placa bacteriana, el cálculo dental se puede dividir en dos categorías, según su localización respecto del margen gingival: *cálculo supragingival* y *subgingival*. El primero se encuentra por encima del margen gingival del diente. Se caracteriza por presentar un color amarillento, fragilidad, proteínas salivales y en su composición se encuentra más brusita y fosfato octocálcico que whitlockita y magnesio (al contrario de lo que pasa en el subgingival) (24,25).

En cuanto al cálculo subgingival, se encuentra localizado por debajo del margen gingival. Presenta un color marrón oscuro, mayor dureza, no presenta proteínas salivales y su proporción de calcio/fosfato es superior al del cálculo supragingival. A su vez, cabe destacar que aumenta la proporción de  $\text{Na}^{2+}$  a medida que la bolsa periodontal se va haciendo más profunda (24,25).

Para la formación del cálculo debe producirse una calcificación de la placa bacteriana. Este hecho supone la unión de iones de calcio a los complejos de carbohidratos y proteínas de la matriz orgánica, y la precipitación de sales de calcio cristalino, teniendo en cuenta que la presencia de un pH elevado y un aumento en la concentración de lactato cálcico en la saliva provocará un aumento de la producción de éste (2,25,26,27,28). Al principio los cristales se van formando en la matriz intracelular y sobre la superficie bacteriana, pasando por último a crearse en el interior de las bacterias. La fuente de minerales en el cálculo supragingival es la saliva, mientras que en el subgingival es probable que sea el exudado o fluido gingival el que provea de sales al cálculo subgingival (2,8,27).

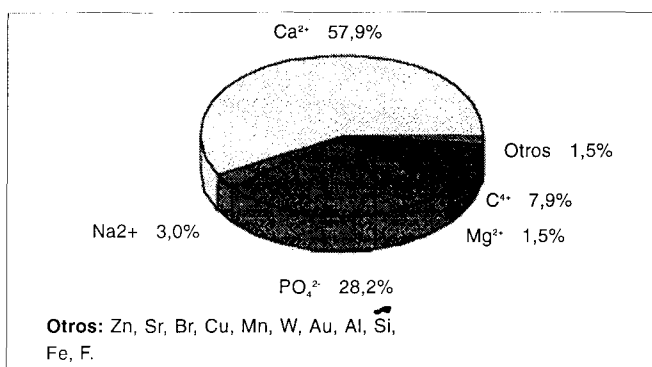


Figura 1. Composición inorgánica del cálculo dental.

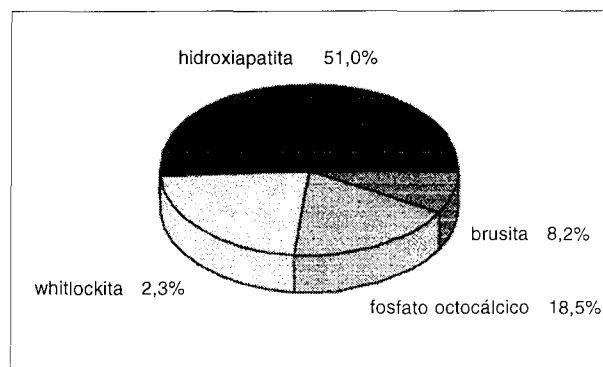


Figura 2. Componentes cristalizados del cálculo dental.

La calcificación de la placa comienza a producirse entre el 1° y 14° día de la formación de la placa bacteriana. La calcificación de ésta es de un 50% a los 2 días y de un 60 a un 90% a los 12 días (2,8).

Aunque en algunos estudios se sugiere que para la formación del cálculo dental no es necesaria la presencia de microorganismos (por ejemplo en uno realizado sobre ratas sin gérmenes bucales (29)), otros sugieren la posibilidad de que el *Bacterionema matruchotti* (bacilo grampositivo) desempeña un papel importante en la formación del cálculo, al promover la calcificación de la placa bacteriana, así como también lo hacen cierto número de gramnegativos como la *Veillonella*, *Neisseria*, *Haemophilus* y *Bacteroides*, aunque la mayoría de autores no lo han demostrado fielmente (2,8,9,30). Además, un dato a tener en cuenta, es que, según un estudio de Sidaway (31), la vitalidad de las bacterias puede enlentecer la calcificación de la placa bacteriana.

Cabe destacar, como se ha dicho con anterioridad, que el cálculo dental mantendrá o incrementará la enfermedad periodontal que pueda existir en los diferentes dientes de la cavidad bucal de un individuo concreto. De aquí que su prevención, ya sea mediante una profilaxis dental, antibioticoterapia o antisepsia, será muy importante para evitar la pérdida posterior de los dientes (25,32,33,34).

## BACTERIOLOGIA DE LA PLACA Y DEL CALCULO DENTAL

Ya desde los primeros días de vida, los microorganismos van colonizando toda la cavidad bucal. En un estudio realizado sobre recién nacidos ya se podían encontrar numerosos tipos de bacterias, predominando las bacterias gramnegativas sobre las positivas (9). Este dato no se corresponde con lo que nos podemos encontrar en la placa de un individuo adulto, ya que en un adulto predominan las bacterias grampositivas en la placa supragingival (donde predominan las especies

**Tabla I. Bacterias presentes en un recién nacido. (Tomada de Mouton C, Robert JC. Bacteriología bucodental. Barcelona: Ed. Masson, 1995).**

Bacterias presentes	% de aparición
<i>P. melaninogénica</i>	21,67
<i>F. nucleatum</i>	18,57
<i>Veillonella</i>	17,64
<i>Prevotella</i> no pigmentadas	17,64
<i>B. gracilis</i>	7,12
<i>Leptotrichia</i>	5,26
<i>P. loescheii</i>	4,02
<i>Capnocytophaga</i>	4,02
<i>P. intermedia</i>	2,16
<i>E. corrodens</i>	0,92
<i>Wollinella</i>	0,92
Otras	0,06

de *Streptococcus*) y las gramnegativas en la placa subgingival (donde destaca el *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, siendo el serotipo b el más predominante, asociado a la rápida progresión de la enfermedad periodontal) (9,35,36,37).

La composición de la placa bacteriana, donde se ha demostrado que se pueden encontrar hasta 400 especies diferentes de bacterias y hongos (2,8), va a ser diferente dependiendo de las estructuras de la cavidad bucal en la que se encuentre (38), de la higiene y dieta

**Tabla II. Proporciones relativas de la flora oral, dependiendo de los lugares en que se localice (tomada de Marsh P, Martin M. Oral microbiology. 2ª edición. London: Ed. Van nostrand reinhold. 1984).**

Población	Mejilla	Lengua	Saliva	Placa supra	Placa Sub
<i>S. mutans</i>	<1	<1	<1	0-50	?
<i>S. sanguis</i>	11	4	8	15	8
<i>S. mitior</i>	60	8	20	15	8
<i>S. salivarius</i>	11	20	20	<0,5	<0,5
Enterococos	<0,1	<0,01	<0,1	<0,1	0-10
Bacilos Gram +	?	20	15	42	35
Lactobacilos	<0,1	< 0,1	<1	<0,005	<1
<i>Veillonella</i>	1	12	10	2	10
<i>Neisseria</i>	<0,5	<0,5	<1	<0,5	<0,5
<i>Bacteroides oralis</i>	?	4	?	5	5
<i>Porphyromonas melaninogenicus</i>	<1	<1	<1	<1	6
<i>Vibrio sputorum</i>	<0,5	<0,5	?	1	5
<i>Fusobacterium</i>	?	1	<1	4	3
Espiroquetas	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1

del paciente (39,40,41,42), de la edad (9,43,44), de si hay establecida una enfermedad periodontal (13), del tiempo transcurrido desde que ésta se empezó a formar (7), del lado de la boca en que se encuentre (41) y de la profundidad de ésta dentro de la bolsa periodontal (45) (Tablas 1 y 2).

Es importante destacar las diferencias existentes, en cuanto a composición microbiológica de la placa se refiere, entre el hombre y los otros primates, lejanos o no. Por ejemplo, en un estudio realizado sobre los monos ardillas (primate lejano al *Homo sapiens sapiens*), se observa cómo los porcentajes de bacterias presentes en éstos, no guardan una gran similitud con los que se dan en la flora bacteriana del surco gingival humano. Así mismo muchas de las bacterias que en este estudio se observan no se encuentran en el hombre. Esto lleva a pensar que cada especie tiene su propia flora bacteriana particular. Lo que no se sabe es si son las mismas bacterias las que llegan a provocar la enfermedad periodontal, y si ésta se da en los mismos términos que en el hombre (46).

En cuanto a las bacterias del cálculo dental, según un estudio realizado por Sidaway (47) en 1980, se encuentran una extensa variedad de microorganismos. Entre ellos predominan los *Streptococcus sanguis* y *mitior* y los *Actinomyces*, siendo además muy comunes las *Fusobacterias*, *Porphyromonas melaninogenicus*, *Leptotrichia bucalis*, *Neisseria* y *Selomonas* (48).

Aunque la verdad es que existen pocos autores que se hayan dedicado a realizar estudios de investigación sobre la composición bacteriana del cálculo, cabe suponer que éste deberá tener al menos las mismas bacterias que presenta la placa, ya que se trata de una calcificación de ésta, por lo que también existirán diferencias bacterianas entre el cálculo supra y subgingival.

## ESTUDIOS DE PROYECCION EN PALEOPATOLOGIA

Aplicando la definición de paleopatología al ámbito intrabucal, la paleopatología oral es definida por

Campillo (6) como el estudio de las estructuras, funciones y enfermedades del aparato masticador, a partir de restos humanos y de animales procedentes de tiempos antiguos. Tillaud (49) añadió años después a esta definición que la paleopatología tenía además la finalidad de establecer un diagnóstico de los restos fósiles de individuos para, de esta manera, realizar un diagnóstico retrospectivo de ellos.

Basándose en esta definición, mediante el estudio de las bacterias del cálculo dental se podría llegar a comparar el cálculo humano actual con el de individuos de hace cientos o miles de años. De tal manera, se podrían recoger datos importantes sobre su dieta (40), sobre las semejanzas con las manifestaciones bucales que producen las enfermedades gingivales y periodontales, y si son las mismas bacterias las que producen o participan en su inicio y evolución, entre otros datos.

Para esto se hace necesario poder discernir entre las bacterias que se van a encontrar en el cálculo humano actual. Entre los pocos investigadores que se han dedicado a este tema destaca Sidaway (31,47,50), el cual distinguió treinta y tres tipos de bacterias, presentes en el cálculo, a través de varias técnicas. Así pues, demostró cómo existían diferencias notables entre las bacterias, puesto que algunas se calcificaban *in vitro* y otras no, experimento que también fue realizado por Souchay y col. (51), en el caso de los *Streptococcus mutans*. Prosiguiendo con su empeño, logró observar la forma y tipos de hidroxiapatita, que se produce a nivel de las diferentes bacterias que estudió, a la hora de calcificarse. De esta manera verificó cómo en la mayoría de bacilos grampositivos se produce sólo calcificación intracelular, aunque también se puede observar en mesosomas y raramente en vesículas extracelulares. Por contra, en los bacilos gramnegativos se encuentran vesículas extracelulares altamente mineralizadas; teniendo en cuenta que la calcificación inicial intracelular en mesosomas no era siempre observada.

En cuanto a la calcificación extracelular, Sidaway observó que era una característica de algunos de los cocos grampositivos y de todos los cocos gramnegativos, con depósitos celulares. Una característica de algunas especies, particularmente de los cocos gramnegativos, era la presencia aleatoria, de forma ordenada, de esferas amorfas de fosfato cálcico, donde el citoplasma parece estar cubierto parcialmente de hidroxiapatita.

Aun así, mediante este estudio, Sidaway pudo atisbar que la mayoría de los microorganismos estudiados presentaban calcificación cristalina, indicando en cada uno de ellos qué tipo de formas de fosfato cálcico pre-

dominaban, dependiendo de si éste presentaba vitalidad o no. Este último dato parece trascendental para una buena evaluación o diferenciación de las bacterias, puesto que observó diferencias notables en los resultados obtenidos, tanto en un estudio como en otro.

También a nivel microbiano se utilizan otras técnicas para detectar bacterias, en placa y cálculo, como es el caso de la prueba de oligonucleótidos (52), la técnica de la inmunofluorescencia directa (53,54) o la de la hibridación del ADN bacteriano (55).

Sin adentrarse en el mundo de la microbiología, otros autores han intentado estudiar el cálculo y la enfermedad periodontal en poblaciones antiguas. Entre ellos destaca Kerr (56), el cual estudió y comparó la enfermedad periodontal que se puede encontrar en la clínica diaria con la pérdida de soporte óseo que se daba en individuos antiguos, basándose en la arquitectura y la apariencia ósea interdental, obteniendo como resultado una correlación positiva de dicha enfermedad entre ambas poblaciones.

Un dato que destacan muchos autores en sus estudios realizados sobre la enfermedad periodontal en individuos ancestrales es el de la sobrevaloración que se realiza a la hora de diagnosticar lo que pudo ser en su día una periodontitis, o cálculo dental, teniendo en cuenta que la técnica más utilizada para valorar la enfermedad periodontal es la de la medición de la distancia existente entre la línea amelocementaria y el borde más coronal de la cresta ósea alveolar, sin contabilizar aquellas zonas en las que el individuo haya perdido cresta ósea (40). Prueba de esto se demuestra en un estudio realizado por Smith, Corbett y Flinn (57), sobre individuos medievales anglosajones, encontrados bajo una superficie acuosa, donde observaron que existía una gran cantidad de sustancia calcificada, sobre todo en el lado derecho y además en la zona oclusal de ambas hemiarquadas. Tras hacer diversas pruebas observaron que lo que *a priori* había sido diagnosticado como cálculo dental (debido a que su contenido en Ca/P era parecido al del cálculo actual (22,7-13,0), así como los porcentajes de hidroxiapatita, whitlockita, brusita y fosfato octocálcico) resultó no serlo, puesto que su matriz era soluble, cuando normalmente es insoluble y de consistencia firme.

En otros estudios, realizados por Clarke y cols. (58,59,60) sobre individuos prehistóricos, también se observó que podía existir una sobrevaloración periodontal a la hora de estudiar individuos antiguos. Para ello se basaban en la hipótesis de que al producirse un desgaste dental importante, los dientes por sí mismos tienden a erupcionar para poder volver a ocluir de nuevo con su antagonista. Este hecho dará como resul-



**Figura 3.** Imagen tomada al microscopio electrónico, correspondiente a una muestra de cálculo dental de un individuo medieval (más de 1000 años de antigüedad). Obsérvense formas alargadas, sugestivas de estructuras bacilares (7200 aumentos) (cortesía del Prof. Dr. D. Daniel Turbón, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Barcelona).



**Figura 4:** Imagen tomada al microscopio electrónico, correspondiente a una muestra de cálculo dental de un individuo de época neolítica (unos 5000 años de antigüedad). Obsérvense distintas formas alargadas y esféricas, sugestivas de estructuras bacilares y cocáceas (3000 aumentos) (cortesía del Prof. Dr. D. Daniel Turbón, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Barcelona).

tado un aumento de la distancia entre la línea amelocementaria y la cresta ósea, lo cual llevaría a error en el caso de diagnosticar la enfermedad periodontal a partir de la medición de esta distancia. Así pues, basándose en este supuesto, es normal que se encuentre más periodontitis en los hombres (61), los cuales presentan una mayor musculatura y por tanto un mayor desgaste, que en mujeres.

Aun así, existen controversias a la hora de poder confirmar estos estudios, ya que como sucede en el caso de la erupción, si la cresta ósea está algo dañada, como indican estos autores, esto querrá decir que ha podido existir una enfermedad periodontal, o únicamente un proceso de erupción, dañándose algo la cresta ósea o una combinación de ambos.

Cabe destacar también la importancia de conocer los factores socioculturales del individuo o grupo de individuos antiguos que se están estudiando, desde un punto de vista periodontal, puesto que en numerosas civilizaciones eran típicas las exodoncias rituales en vida (1), por lo que al observar un cadáver de un individuo de este tipo, se podría pensar que ha perdido los dientes por periodontitis, cuando en realidad no ha ocurrido así, llevando de nuevo a los investigadores a la sobrevaloración periodontal.

También cabe resaltar la importancia que parece tener la dieta en relación con la aparición y desarrollo de la enfermedad periodontal en poblaciones antiguas. En un estudio realizado por Chimenos y Martínez (40) se demuestra que las poblaciones con un alto índice de dieta vegetal se correlacionaban con una menor pérdida de tejido óseo peridentario, pudiéndose deber a la

autoclisis que provocan las fibras presentes en la dieta vegetal.

Por último, sirva este artículo de revisión como trabajo introductorio a una nueva línea de investigación en paleodontología: la paleomicrobiología. Esta rama de la paleodontología, aún muy joven, permite estudiar al microscopio electrónico las distintas formas bacterianas presentes en el cálculo dentario de individuos tan antiguos como los ejemplos de las figuras 3 y 4. Tal vez en breve plazo se disponga de medios técnicos suficientes para poder identificar con más precisión las formas bacterianas halladas en la placa dental calcificada de individuos de épocas pretéritas.

## SUMMARY

Reflections about dental plaque and calculus: a paleodontological perspective.

The periodontal pathology is included among the diseases diagnosed in ancient human remains. This fact has been the reason for some researchers to study the dental calculus from human remains aged hundreds or thousands of years, in order to compare it with that of nowadays individuals. So, these researchers have gathered information about the diet, the oral manifestations of gingival and periodontal diseases, and about the bacteria implicated in this pathology in ancient populations as well, among other data related to anthropology, archeology and paleodontology. In this article, organic, inorganic and bacterial composition of dental plaque and calculus is described, and several studies are reviewed, to know better the traits of the periodontal disease in the past.

## KEY WORDS

Bacterial plaque. Dental calculus. Periodontal disease. Paleodontology.

## CORRESPONDENCIA

Dr. Eduardo Chimenos Küstner  
Vía Augusta 124, 1º3ª  
08006 Barcelona

## BIBLIOGRAFIA

1. Brothwell DR. Desenterrando huesos. México D.F: Ed. Fondo de cultura económica, 1987.
2. Carranza FA. Periodontología clínica. 5ª edición. México D.F: Ed.Interamericana, 1984.
3. Ring ME. Historia de la odontología. Barcelona: Ed.Doyma, 1985
4. Vega JI. Presente y futuro de las relaciones entre arqueología y paleopatología-antropología. *Munibe Antropología Arkeologia* 1992; 8: 241-4.
5. Correa AI. Estomatología forense. México D.F: Ed.Trillas, 1990.
6. Campillo D. La investigación paleopatológica. Cuadernos de sección de antropología-etnografía. San Sebastian: Ed.Eusko Ikaskuntza, 1987.
7. MacFarlane TW, Samaranayake LP. Clinical oral microbiology. Londres: Ed.Wright, 1989.
8. Newman MG, Nisengard R. Oral microbiology and immunology. Philadelphia: Ed.WB Saunders company, 1988.
9. Mouton C, Robert JC. Bacteriología bucodental. Barcelona: Ed.Masson, 1995.
10. Loesche WJ. Role of streptococcus mutans in human dental decay. *Microbiological reviews* 1986; 50(4): 353-80.
11. Marsh P, Martin M. Oral microbiology. 3ª edición. Londres: Ed.Chapman and Hall, 1992.
12. Robert JC, Bonnaure-Mallet M. Types de coagréations interbacteriennes dans la plaque dentaire. *Actualités Odonto-Stomatol* 1990; 172: 697-704.
13. Flemmig TF. Compendio de periodoncia. Barcelona: Ed.Masson, 1995.
14. Zetner K, Thiemann G. The antimicrobial effectiveness of clindamycin in diseases of the oral cavity. *J. Vet. Dent* 1993; 10(2): 6-9.
15. Sissons CH, Cutress TW, Hoffman MP, Wakefield JJ. A multi-station dental plaque microcosm for the study of plaque growth, metabolism, pH, and mineralization. *J. Dent. Res.* 1991; 70(11): 1409-16.
16. Tejerina JM, Andrés MT, Valle G, Fierro JF. Antibióticos y enfermedad periodontal. *Periodoncia* 1995; 5(4): 253-62.
17. Simion M, Trisi P, Maglioni M, Piatelli A. Bacterial penetration in vitro through GTAM membrane with and without topical clorhexidine. *J. Clin. Periodontol* 1995; 22(4): 321-31.
18. Chimenos E, Juncá S, Sentís J, Echeverría JJ. Estudio paleopatológico de la pérdida de soporte óseo y del desgaste oclusal en restos humanos de maxilares, mandíbulas y piezas dentarias. *Arch Odontoestomatol* 1990; 6(1): 15-25.
19. Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E. Natural history of periodontal disease in man. *J. Clin. Periodontol* 1986; 13: 431-40.
20. Machtei EE, Christersson LA, Zambon JJ, Hausmann E, Grosi SG, Dunford R, Genco RJ. Alternative methods for screening periodontal disease in adults. *J. Clin. Periodontol* 1993; 20: 81-7.
21. Van der Velden U, Abbas F, Armand S, De Graff J, Timmerman MF, Van der Weijden GA, Van Winkerhoff AJ, Winkel EG. The effect of sibling relationship on the periodontal condition. *J. Clin. Periodontol* 1993; 20: 683-90.
22. Castillo A, Liébana J, Gutiérrez JJ, Cutando A, Baca P, Llodra JC. Estudio microbiológico de periodontitis asociadas con disminución de adhesividad y fagocitosis de los polimorfonucleares en pacientes de una misma comunidad familiar. *Periodoncia* 1995; 5(1): 57-67.
23. Schuster G. Oral microbiology and infectious disease. 3ª edición. Philadelphia: Ed.BC Decker Inc.,1990.
24. Friskopp J, Hammarström L. A comparative scanning electron microscopic study of supragingival and subgingival calculus. *J. Periodontol* 1980; 51: 553-8.
25. Mandel ID. Calculus update: prevalence, pathogenicity and prevention. *J. Am. Dent. Assoc.* 1995; 126: 573-80.
26. Schaecken MJM, Van der Hoeven JS. Influence of calcium lactate rinses on calculus formation in adults. *Caries Res* 1990; 24: 376-8.
27. Robert JC, Bonnaure-Mallet M, Florat C, Cloche D. Use of scanning electron microscopy to investigate dental calculus in dogs. *Veterinary Record* 1990; 127: 475-7.
28. Lo Storto S, Di Grezia R, Sivestrini G, Cattabriga M, Bonucci E. Studio morfologico ultrastrutturale di tartaro sopragengivale. *Minerva Stomatol* 1990; 39: 83-9.
29. Tanzer JM, Grant LP, McMahon T, Clinton D, Eanes DE. simultaneous caries induction and calculus formation in rats. *J Dent Res* 1993; 72(5): 858-64.
30. González F, Sognnaes RF. Electron microscopy of dental calculus. *Science* 1960; 131: 156-63.
31. Sidaway DA. A microbiological study of dental calculus: a comparison of the in vitro calcification of viable and non-viable microorganisms. *J Periodontol Res* 1979; 14: 167-72.
32. Schwarz JP, Ratteitschak-Plüss EM, Guggenheim R, Düggelein M, Ratteitschak KH. Effectiveness of open flap root debridement with rubber cups, interdental plastic tips and prophylaxis. *J Clin Periodontol* 1993; 20: 1-6.

33. Herrera D, Bergström J, Legido B, Sanz M. Detección de periodontopatógenos en periodontitis del adulto y respuesta clínica al raspado y alisado radicular. *Periodoncia* 1995; 5(4): 263-74.
34. Addy M, Koltai R. Control of supragingival calculus. Scaling and polishing and anticalculus tooth pastes: an opinion. *J Clin Periodontol* 1994; 21(5): 342-6.
35. Fine D. Incorporating news technologies in periodontal disease diagnosis into training programs and patient care: a critical assesment and plan for the future. *J. Periodontol* 1992; 63:383-93.
36. Hölttä P, Alaluusua S, Saarela M, Asikainen S. Isolation frequency and serotype distribution of mutans *Streptococci* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, and clinical periodontal status in finnish and vietnamese children. *Scand J Dent Res* 1994; 102: 113-19.
37. Pollard MA, Curzon MEJ. Dental health and salivary *Streptococcus mutans* levels in a group of children with heart defects. *Int J Paediatric Dent* 1992; 2: 81-5.
38. Marsh P, Martin M. Oral microbiology. 2ª edición. London: Ed. Van nostrund reinhold. 1984.
39. Dahlén G, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Putative periodontopathogens in "disease" and "non-disease" persons exhibiting poor oral hygiene. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 35-42.
40. Chimenos E, Martínez A. Prevalencia de paleopatología oral infecciosa y su relación con la dieta, en poblaciones prehistóricas catalanas. *Arch Odontoestomatol* 1993; 9 (3): 139-45.
41. McNabb H, Mombelli A, Long NP. Supragingival cleaning 3 times a week: the microbiological effects in moderately deep pockets. *J Clin Periodontol* 1992; 19: 348-42.
42. Ríos JV, Borabio MV, Velasco E, Martínez-Sahuquillo A, Machuca G, Lacalle JR, Bullón P. Estudio longitudinal (2 años) de la periodontitis crónica del adulto: respuesta clínica y microbiológica. *Arch Odontoestomatol* 1995; 11(1): 1-13.
43. Savitt DE, Kent RL. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* by subject age. *J Periodontol* 1991; 62: 490-4.
44. Haffajee AD, Socransky SS. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides intermedius* in human periodontitis: age relationship and mutual association. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 659-62.
45. Douglass KD, Cobb CM, Berkstein S, Killoy WJ. Microscopic characterization of root surface - associated microbial plaque in localized juvenil periodontitis-. *J Periodontol* 1990; 61: 475-84.
46. Beem JE, Hurley CG, Magnusson Y, McArthur WP, Clark WB. Subgingival microbiota in squirrel monkeys with naturally occurring periodontal diseases. *Infection and Immunity* 1991; Nov: 4034-41.
47. Sidaway DA. A microbiological study of dental calculus: an electron microscopic study of in vitro calcified microorganisms. *J Periodontal Res* 1980; 15: 240-54.
48. Brown CM, Hancock EB, O'Leary TJ, Miller CH, Sheldrake MA. A microbiological comparision of young adults based on relative amounts of subgingival calculus. *J Periodontol* 1991; 62: 591-7.
49. Thillaud P. El diagnóstico retrospectivo en paleopatología. *Munibe Antropologia-Arkeologia* 1992; 8: 81-8.
50. Sidaway DA. A microbiological study of dental calculus: the in vitro calcification of microorganisms from dental calculus. *J Periodontal Res* 1978; 13: 360-6.
51. Souchay A, Povezat JA, Menanteau J. Mineralization of *Streptococcus mutans* in vitro: An untrastructural study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995; 79(3): 311-20.
52. Moncla BJ, Braham PH, Persson GR, Page RC, Weinberg A. Direct detection of *Porphyromonas gingivalis* in *Macaca fascicularis* dental plaque samples using an oligonucleotide probe. *J Periodontol* 1994; 65(5): 398-403.
53. Linossier A, Aspillaga E, Gajardo M. Hallazgo de bacterias comensales de la cavidad oral en tártaro dental de restos óseos de indígenas chonos. *Rev Chil Antropol* 1988; 7: 123-8.
54. Hamada S, Masuda N, Ooshima T, Sobue S, Kotani S. Epidemiological survey of *Streptococcus mutans* among japanese children: Identification and serological typing of the isolated strains Japan. *J Microbiol* 1976; 20(1): 33-44.
55. Coykendall AL. Classification and identification of the viridans *Streptococci*. *Clinical Microbiology Rev* 1989; Jul: 315-28.
56. Kerr NW. A method of assessing periodontal status in archaeologically derived skeletal material. *J Periodontol* 1988; 2(2): 67-78.
57. Flinn RM, Corbett ME, Smith AJ. An unusual dental deposit: A taphonomic process?. *J Archaeol Science* 1987; 14: 291-5.
58. Clarke NG, Carey SE, Srinkandi W, Hirsch RS, Leppard PI. Periodontal disease in ancient populations. *Am J Phys Anthropol* 1986; 71: 173-83.
59. Clarke NG, Hirsch RS. Periodontitis and angular alveolar lesions: A critical distinction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69: 564-71.
60. Riapamonti U. The hard evidence of alveolar bone loss in early hominids of Southern Africa. *J Periodontol* 1989; 60(2): 118-20.
61. Chimenos E, Martínez A. Antecedentes prehistóricos de la enfermedad periodontal. *Avances en Periodoncia* 1990; 2: 149-54.